

## ⑫ 公開特許公報(A)

平2-300133

⑮ Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)12月12日

A 61 K 31/785

31/70

47/48

C 08 G 69/48

ADU

G

NRH

7431-4C

7431-4C

7624-4C

9053-4J

審査請求 未請求 請求項の数 9 (全7頁)

⑭ 発明の名称 水溶性高分子化医薬製剤

⑯ 特 願 平1-116082

⑰ 出 願 平1(1989)5月11日

⑱ 発 明 者 桜 井 靖 久 東京都杉並区永福3-17-6  
 ⑱ 発 明 者 岡 野 光 夫 千葉県浦安市美浜5-4-808  
 ⑱ 発 明 者 片 岡 一 則 千葉県柏市大室1083-4 柏ビレジ141-9  
 ⑱ 発 明 者 山 田 則 子 東京都板橋区前野町6-10 前野町ハイツ1-601  
 ⑱ 発 明 者 井 上 祥 平 東京都豊島区千早町4-12 キヤニオンマンション千早町206  
 ⑱ 発 明 者 横 山 昌 幸 東京都品川区東大井5-26-25  
 ⑲ 出 願 人 新 技 術 開 発 事 業 団 東京都千代田区永田町2丁目5番2号  
 ⑳ 代 理 人 弁 理 士 平 木 祐 輔

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

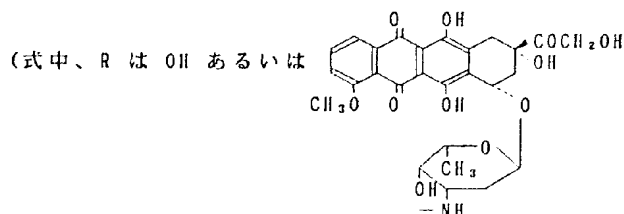
水溶性高分子化医薬製剤

## 2. 特許請求の範囲

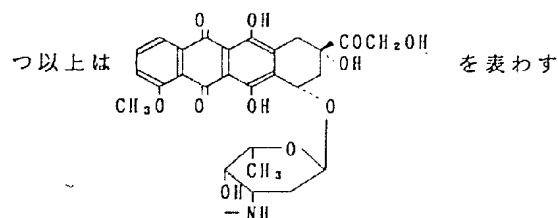
- (1) 親水性セグメントと、側鎖に薬物を結合せしめた疎水性の薬理機能セグメントとを有する水溶性のブロック共重合体からなる水溶性高分子化医薬。
- (2) 薬理機能セグメントを内核に親水性セグメントを外核とするミセルを形成するものである請求項(1)記載の水溶性高分子化医薬。
- (3) 薬物が抗ガン剤である請求項(1)記載の水溶性高分子化医薬。
- (4) 抗ガン剤がアドリアマイシンである請求項(1)記載の水溶性高分子化医薬。
- (5) ブロック共重合体が下記式 I で表される請求項(1)記載の水溶性高分子化医薬。



(I)

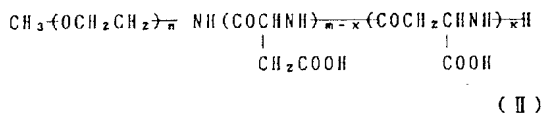


を表わし、n は5~400、m は1~300、および x は0~300の整数を示すが、R の少なくとも1



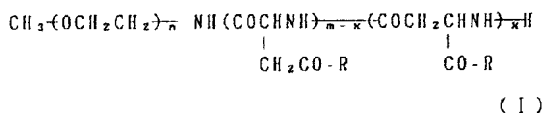
ものとする。)

- (6) 親水性セグメントと、薬物と結合可能な側鎖を有し、該薬物を結合した場合において疎水性となる第2のセグメントからなる薬物担持用担体。
- (7) 下記式 II で表される請求項(6)記載の薬物担持用担体。

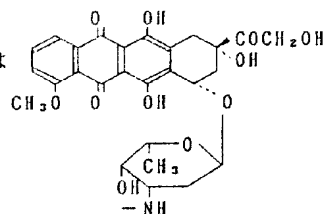


(但し、式中、n は5～400、m は1～300、x は0～300の整数を示す。)

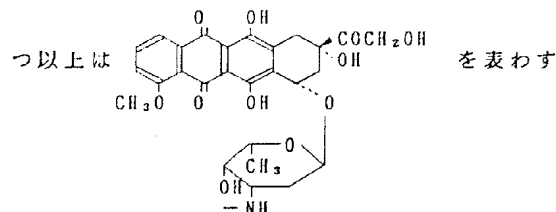
(8) 下記式Iで表わされるブロック共重合体。



(式中、R は OH あるいは

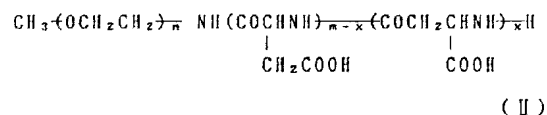


を表わし、n は5～400、m は1～300、およびx は0～300の整数を示すが、R の少なくとも1



ものとする。)

(9) 下記式IIで表わされるブロック共重合体。



(但し、式中、n は5～400、m は1～300、x は0～300の整数を示す。)

### 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、親水性セグメントと、側鎖に薬物を結合せしめた疎水性の薬理機能セグメントとを有する水溶性ブロック共重合体からなる水溶性高分子化医薬に関するものである。

(従来の技術)

低分子薬物を高分子に結合させることにより、

薬物の体内分布を望ましいものとし、薬物の体内半減期を増大させる試みは過去に幾つかなされてきた。しかし、それらの試みで用いられた高分子は単一成分からなるホモポリマーか、2つの成分を交互か順不同に重合させたものであった。

(発明が解決する課題)

従来の上記のようなポリマーの場合においては、薬効を上昇させるために薬物の担持量を多くすると薬物の疎水性により、水溶性が低下する欠点があり、本発明の課題は、薬物の担持量を多くしても水溶性が低下しない水溶性の高分子化医薬を提供することにある。

(課題を解決するための手段)

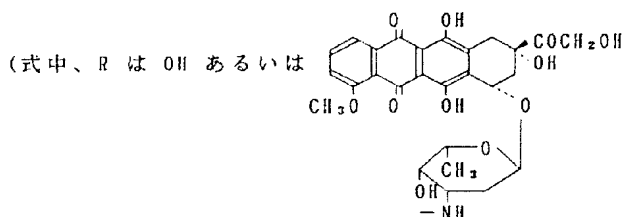
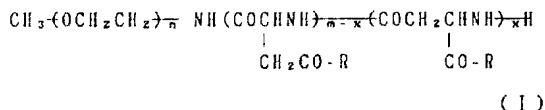
本発明者らは、従来の高分子化医薬の持つ欠点を解消しうる高分子化医薬の開発を試み、鋭意研究を行った結果、今回、親水性の第1のセグメントと第2のセグメントから成るブロックコポリマーのうち第2のセグメントに薬物を選択的に導入することで、この第2のセグメント成分を疎水性化することにより、第2のセグメントを内核に、

第1のセグメントを外側とするミセルを形成させることで薬物の導入に伴う水溶性の低下、沈殿の生成を防ぐことに成功したものであり、本発明者らが開発した高分子化医薬はミセルを形成することで良好な水溶性を有すると共に、水溶液中での薬品としての安定性も、元の薬物よりも増大させることができるものである。

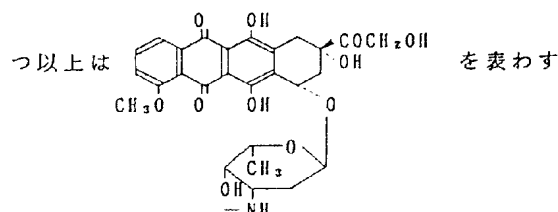
すなわち、本発明は、

- (1) 親水性セグメントと、側鎖に薬物を結合せしめた疎水性の薬理機能セグメントとを有する水溶性のブロック共重合体からなる水溶性高分子化医薬。
- (2) 薬理機能セグメントを内核に親水性セグメントを外核とするミセルを形成するものである(1)記載の水溶性高分子化医薬。
- (3) 薬物が抗ガン剤である(1)記載の水溶性高分子化医薬。
- (4) 抗ガン剤がアドリマイシンである(1)記載の水溶性高分子化医薬。
- (5) ブロック共重合体が下記式Iで表される(1)記

載の水溶性高分子化医薬。



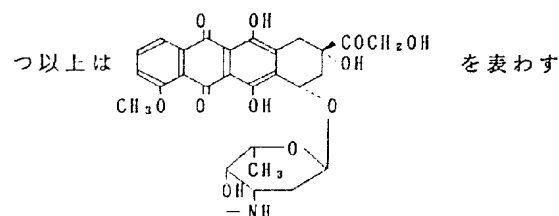
を表わし、n は 5~400、m は 1~300、および x は 0~300 の整数を示すが、R の少なくとも 1



ものとする。)

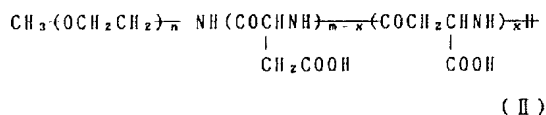
- (6) 親水性セグメントと、薬物と結合可能な側鎖を有し、該薬物を結合した場合において疎水性

x は 0~300 の整数を示すが、R の少なくとも 1



ものとする。)

- (9) 下記式 II で表わされるブロック共重合体。



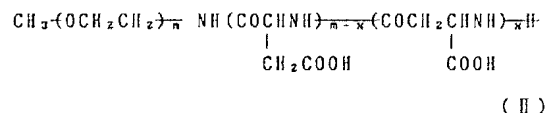
(但し、式中、n は 5~400、m は 1~300、x は 0~300 の整数を示す。)

に関する。

本発明における親水性の第 1 のセグメントとしては、例えばポリエチレングリコール、ポリサッカライド、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリメタクリル酸エステル、ポリアクリ

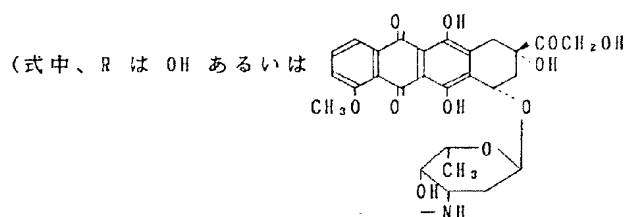
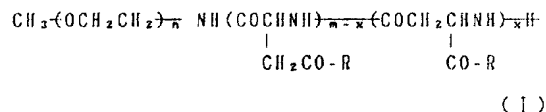
となる第 2 のセグメントからなる薬物担持用担体。

- (7) 下記式 II で表される(6)記載の薬物担持用担体。



(但し、式中、n は 5~400、m は 1~300、x は 0~300 の整数を示す。)

- (8) 下記式 I で表わされるブロック共重合体。



を表わし、n は 5~400、m は 1~300、および

ル酸エステル、ポリアミノ酸等あるいはこれらの誘導体由来のセグメントか、また、薬物と結合して疎水化する第 2 のセグメントとしては側鎖にポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸、ポリリシン、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリリンゴ酸、ポリ乳酸、ポリアルキレンオキシド、長鎖アルコール等あるいはこれらの誘導体由来のセグメントが挙げられる。

更に、第 2 のセグメントに結合させる薬物としては、例えばアドリアマイシン、ダウノマイシン、メソトレキセート、マイトマイシン C 等の抗ガン剤、中枢神経系用薬、末梢神経系用薬、アレルギー用薬、循環器官用薬、呼吸器官用薬、消化器官用薬、ホルモン剤、代謝性医薬品、抗生物質、化学療法剤等の薬物が挙げられる。

以下に、ポリエチレングリコール誘導体由来のセグメントとポリアスパラギン酸由来のセグメントからなるブロックコポリマーで、抗ガン剤のアドリアマイシンをポリアスパラギン酸セグメントに結合させた場合を例にとり、本発明を更に詳述

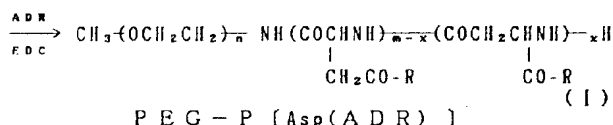
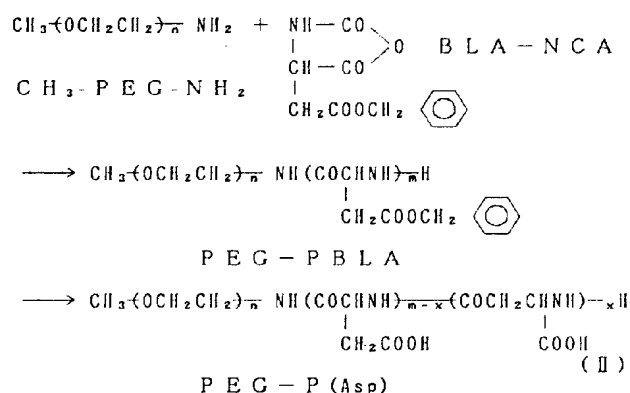
する。

第1図はポリエチレングリコールとポリアスパラギン酸の2成分からなるブロックコポリマーで、抗ガン剤のアドリアマイシンをポリアスパラギン酸の側鎖カルボキシル基に体内で加水分解可能なアミド結合で結合させた場合における、本発明の高分子化医薬の構造概略図である。

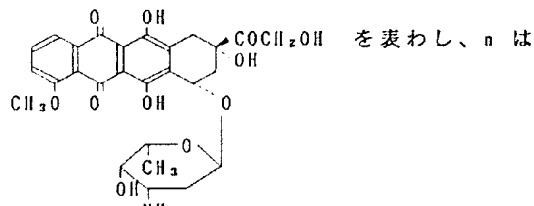
この高分子化医薬の合成は、以下の反応式に示すごとくβ-ベンジル L-アスパルテートN-カルボン酸無水物(BLA-NCA)を、片末端メトキシ基等のアルコキシ基、片末端1級アミノ基のポリエチレングリコール(分子量250-1800)を開始剤として重合させ、ポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル L-アスパルテート)ブロックコポリマー(PEG-PBLA)を得、次いでこのPEG-PBLAをアルカリ加水分解して本発明の薬物担持用担体であるポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロックコポリマー(PEG-P(Asp))を得る。このPEG-P(Asp)のアスパラギン酸残基の80%がアルカリ

加水分解の際にβ-アミド化している。このPEG-P(Asp)に抗ガン剤のアドリアマイシンと水溶性カルボジイミド(EDC)を加えることによりアドリアマイシンの1級アミノ基とポリアスパラギン酸セグメントの側鎖カルボキシル基との間にアミド結合を形成させて、高分子化医薬PEG-P(Asp(ADR))を得ることにより行う。

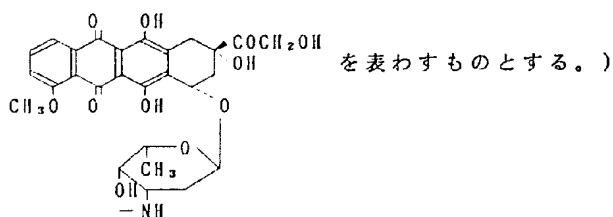
上記において得られたPEG-P(Asp)及びPEG-P(Asp(ADR))のいずれも化学物質として新規なものである。



(但し、式中、RはOHあるいは



5~400、mは1~300、およびxは0~300の整数を示すが、Rの少なくとも1つ以上は



ポリアスパラギン酸(PAsp)部分の分子量は16から35,000まで可変であり、また、アドリアマイシンの置換率(アスパラギン酸残基に対して)は

PAspの分子量が1900の場合12~33mol%、また、10,000の場合3~37mol%のものを得ている。

合成した高分子医薬はいずれの場合も高いアドリアマイシン置換率にもかかわらず良好な水溶性を有しており、凍結乾燥したり濃縮したり(アドリアマイシン換算20mg/ml)してもその水溶性は保たれている。

そして、この高分子化医薬は元のアドリアマイシン(ADR)に比べて医薬としての高い安定性を有している。またこの高分子化医薬は水溶液中でミセルを形成する。そのミセルの大きさは約30nmから200nmの直径である。また、そのミセルを壊すには界面活性剤SDSの添加という極端にきびしい条件が必要であることが明らかとなり、本高分子ミセルの水中での安定性が示された。また、超音波照射、あるいは凍結乾燥によってもミセル形成能に変化はみられなかった。

合成した高分子化医薬の抗ガン活性は表1に示すように元のアドリアマイシンよりも高いものであった。しかもその高い抗ガン活性は元のアドリ

アマイシンよりも少ない副作用の範囲で達成された。

#### 実施例 1

$\beta$ -ベンジル L-アルバレート N-カルボン酸無水物 (BLA-NC A、7.21 g) を N,N'-ジメチルホルムアミド (DMF) 12 ml に溶かし、クロロホルム 60 ml を加える。片末端メトキシ基片末端アミノ基のポリエチレングリコール (分子量 4300) 6.00 g をクロロホルム 60 ml に溶かしてその溶液を BLA-NC A 溶液に加える。70 時間後に反応混合液を 2 l のジエチルエーテルに滴下して沈澱したポリマーをろ過で回収して、ジエチルエーテルで洗浄した後に真空で乾燥してポリエチレングリコール-ポリ ( $\beta$ -ベンジル L-アスパルテート) ブロックコポリマー (PEG-PBLA) を得る。収量 10.09 g (84%)。

PEG-PBLA 10.03 g を 100 ml クロロホルムに溶かす。水：メタノール：1-プロパノール = 1 : 1 : 2 (体積割合) に水酸化ナトリウムを 0.43 N 溶かしたアルカリ混合液を PEG-PBL

時間かくはんする。反応混合液を Spectrapor 7 透析膜 (分子量分画 = 1000) を用いて 0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.5) 中で 3 時間透析する。透析後、Amicon YM30 の膜で限外濾過して未反応のアドリアマイシンやその他の低分子物を除く。得られたブロックコポリマー PEG-P (Asp(ADR)) 中のアドリアマイシン含率は、アスパラギン酸残基に対して 31 mol% であった。(485 nm の吸収より) 同様の手順で、ポリエチレングリコールの分子量が 4000 から 6000、ブロックコポリマー 1 本鎖当りアスパラギン酸残基が 17 から 92 まで、アドリアマイシン含率が 9 mol% から 37 mol% のものが合成でき、それらはすべて良好な水溶性を示した。

#### 実施例 2

PEG-P (Asp(ADR)) (PEG の分子量 4300、ブロックコポリマー 1 本鎖当り 17 個のアスパラギン酸残基、アドリアマイシン 31 mol% のもの) のリン酸等張液 (pH 7.4) 中でのミセル径はレーザー光散乱により重量平均 57 nm、数平均 49 nm と

A 溶液に加える。そのアルカリの等量は PBLA 部分のベンジルエステルの 1.5 倍になるようにした。0 °C、10 分かくはん後、2 l のジエチルエーテルに滴下する。沈澱したポリマーをろ別して、20 ml の蒸留水に溶かして Spectrapor 7 透析膜 (分子量分画 = 1000) を用いて水中で 39 時間透析する。膜内の溶液を凍結乾燥してポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロックコポリマー (PEG-P (Asp)) を得る。収量 3.94 g (49%)

このブロックコポリマー鎖 1 本当り、17 個のアスパラギン酸残基があることがプロトン NMR の測定によりわかった。

この (PEG-P (Asp)) 230.3 mg を 1 ml の蒸留水に溶かしておく。アドリアマイシン塩酸塩 349.2 mg を 260 ml の DMF に溶かし、1.3 倍等量のトリエチルアミンを加える。アドリアマイシン溶液に (PEG-P (Asp)) 水溶液を加え、さらに水溶性カルボジイミド (EDC) を 886 ml 加えて、0 °C で 4 時間かくはんする。その後、水溶性カルボジイミド 886 ml をもう一度加えて室温下 19

測定された。(図 6 参照) また、図 3 に示すようにゲルろ過 HPLC では、界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (SDS) の添加により元のピークの大部分が低分子量側に移動することより、SDS による高分子量ミセルの破壊が観察された。また、図 4 に示すように、アドリアマイシンに基づく蛍光がミセル形成による局所的な高濃度のために消光し、その消光が SDS 添加によってミセルが壊れることで解消していることがわかる。その他の割合のものも 30 nm から 80 nm の直径を有するミセルであった。

図 3 は pH 7.4 のリン酸緩衝液中 (37 °C) でアドリアマイシン特有の 485 nm の吸収強度を経時的に追跡したものである。アドリアマイシンが 100 時間以内にその吸収を半減するのに対し、合成された高分子化医薬では 168 時間経過後も約 90% の吸収が保持され、極めて安定であることがわかる。

#### 実施例 3

CDF 1 メスのマウスに P388 マウス白血病細胞を  $10^6$  個腹腔内に投与し、24 時間後に生理食塩

水に溶かしたPEG-P [Asp(ADR)] (PEGの分子量4300、ブロックコポリマー1本鎖当り17個のアスパラギン酸残基、アドリアマイシン31mol%のもの)腹腔内に投与した。コントロール(1日後に生理食塩水を投与)に対する生存日数の比(T/C)と体重変化を測定した。1群は6匹で行った。結果を表1に示す。アドリアマイシン(ADR)ではT/Cは最大381%であるのに対し高分子化医薬ではADR換算200mg/kgにて490%以上という大きな値を得た。さらに副作用の度合を示す体重減少においてもADRでT/Cが381%得られた投与量において12.5%の減少を示したのに対し、高分子化医薬では最大7.4%しか減少していない。このことより、合成した高分子化医薬はADRに比較して少ない副作用で大きな抗ガン活性があることがわかった。

(本頁以下余白)

表1 マウスP388白血病に対する抗ガン活性

サンプル	投与量 (mg/kg)	中間生存 日数 <sup>1)</sup>	T/C(%)	体重変化 (5日目)
ADR	7.5	15.3	191	+4.4
ADR	15	30.5	381	-12.5
ADR	30	6.5	81	-17.1
PEG-P(Asp(ADR))	80	18.0	225	+6.1
PEG-P(Asp(ADR))	120	32.5	382	-5.5
PEG-P(Asp(ADR))	200	>42.0	>490	-7.4

1) 無処置: 8.0 ~ 8.6 日

(発明の効果)

本発明の高分子化医薬は薬物の担持量を増やしても良好な水溶性を保持するとともに医薬として高い安定性を有しており、しかも副作用も軽減され、したがって、本発明により極めて有用な医薬を提供することができた。

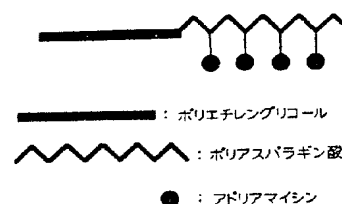
#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の高分子化医薬製剤PEG-P [Asp(ADR)]の構造概略図を示し、第2図は、アドリアマイシン(ADR)及び本発明の高

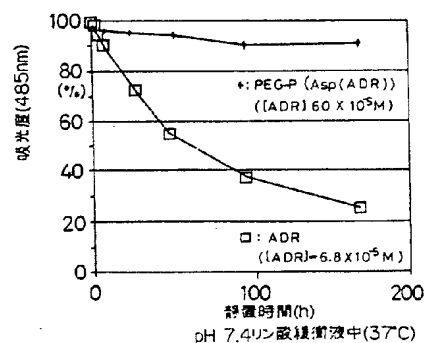
分子化医薬製剤PEG-P [Asp(ADR)]の485nmの吸収強度の経時変化を示し、第3図は、本発明の高分子化医薬製剤PEG-P [Asp(ADR)]、及び該製剤に界面活性剤SDSを加えた場合のゲルろ過HPLCによる分析結果を示し、第4図は、本発明の高分子化医薬製剤PEG-P [Asp(ADR)]、及び該製剤に界面活性剤SDSを加えた場合の蛍光分析結果を示し、第5図は本発明の高分子化医薬製剤PEG-P [Asp(ADR)]のミセル径の分布状態をレーザー光散乱により測定した結果を示す図である。

出願人 新技術開発事業団  
代理人 弁理士 平 木 祐 輔

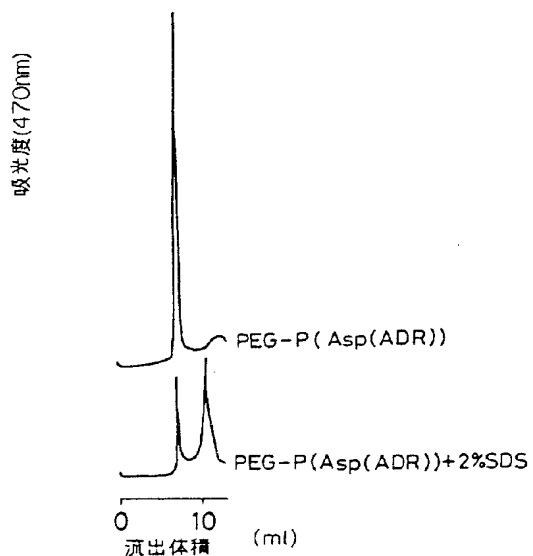
第1図



第2図

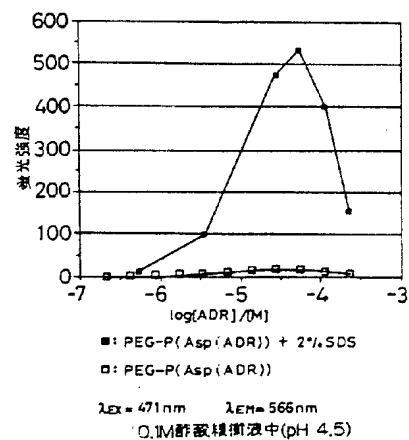


第 3 図



カラム:Asahipak GS-520  
 溶媒:0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.5+0.1M NaCl)

第 4 図



第 5 図

